

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 21620071151968

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

***C.elegans* 三种能量代谢相关基因功能以及
与 p53/CEP-1 之间相互作用的研究**

**The function of three energy metabolism genes in *C.elegans*
and their interaction with p53/CEP-1**

苏 小 珊

指导教师姓名: 杨 玉 荣 副教授

专 业 名 称 : 动 物 学

论文提交日期: 2010 年 07 月

论文答辩日期: 2010 年 07 月

学位授予日期: 2010 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2010 年 07 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

中文摘要	I
英文摘要	III
第一章 前言	1
1 <i>C.elegans</i> 中与线粒体能量代谢有关的几个 <i>ant</i> 基因的概述	1
2 核激素受体家族成员 <i>nhr-6</i> 基因的介绍	6
3 <i>C.elegans</i> 中与肿瘤抑制因子 <i>p53</i> 同源的 <i>cep-1</i> 基因研究概况	10
4 <i>C.elegans</i> 中影响寿命的主要途径	13
5 RNAi (RNA interference) 方法简介	14
6 本文研究的目的和意义	16
第二章 材料与方法	18
1 材料	18
2 常用溶液和培养基配制	19
3 实验仪器	21
4 实验方法	22
第三章 <i>tag-61</i> (<i>ant-1.1</i>) 表达、定位及功能的初步研究	31
1 结果与分析	31
2 讨论	46
第四章 <i>r07e3.4</i> 的表达、定位及功能的初步研究	50
1 结果与分析	50
2 讨论	62
第五章 <i>nhr-6</i> 的表达、定位及功能的初步研究	65
1 结果与分析	65
2 讨论	78
第六章 <i>cep-1</i> 基因的功能以及与 <i>tag-61</i> 、 <i>r07e3.4</i> 、 <i>nhr-6</i> 之间的相互	

作用研究	81
1 结果与分析	81
2 讨论	92
总 结	95
参考文献	97
致 谢.....	104

Table of Contents

Abstract in Chinese.....	I
Abstract in English	III
Chapter 1 Introduction	1
1 Brief introduction of <i>ant</i> genes in <i>C.elegans</i>	1
2 Recent research on <i>C.elegans nhr-6</i>	6
3 Recent research on <i>C.elegans p53/cep-1</i>	10
4 The pathway of lifespan regulation in <i>C.elegans</i>	13
5 Brief introduction of RNAi (RNA interference)	14
6 The aim and purpose of this paper.....	16
Chapter 2 Materials and Methods	18
1 Materials	18
2 Reagents and Media.....	19
3 Instruments.....	21
4 Methods.....	22
Chapter 3 The expression, localization and function of <i>tag-61</i> (<i>ant-1.1</i>)	31
1 Results and analysis	31
2 Discussion.....	46
Chapter 4 The expression, localization and function of <i>r07e3.4</i>	50
1 Results and analysis	50
2 Discussion.....	62
Chapter 5 The expression, localization and function of <i>nhr-6</i>	65
1 Results and analysis	65
2 Discussion.....	78
Chapter 6 The expression, localization and function of <i>cep-1</i> and interaction between <i>cep-1</i> and <i>tag-1</i> , <i>r07e3.4</i> , <i>nhr-6</i>	81
1 Results and analysis.....	81
2 Discussion.....	92
Conclusion	95
Reference.....	97

Acknowledgements.....	104
------------------------------	------------

厦门大学博士论文摘要库

摘 要

腺苷酸转移酶 (adenine nucleotide translocase; ANT) 是一种线粒体双功能蛋白, 又称作 ADP/ATP 载体 (ADP/ATP carrier; AAC), 具有催化 ADP 和 ATP 在细胞质与线粒体内膜之间交换以及调节细胞程序性凋亡的功能, 因此 *ant* 基因对能量代谢及生长发育都有着至关重要的作用。秀丽小杆线虫的基因组编码四个 *ant* 基因 (*ant-1.1*, *ant-1.2*, *ant-1.3*, *ant-1.4*), 本文重点研究的是 *tag-61* (*ant-1.1*) 以及作为 *tag-61* (*ant-1.1*) 旁系同源物的 *r07e3.4* 基因。另外, 在哺乳动物细胞中 ANT 基因与 *nurr77* 和 *p53* 有相互作用, 参与到细胞凋亡中, 因此我们想知道在 *C.elegans* 中是否 ANT 基因也与 *nurr77* 的同源物 *nhr-6* 有相互作用, 因此本文选取了 *C.elegans* 中核受体家族成员 *nhr-6* 基因和 *p53* 家族的 *p53/cep-1* 基因, 通过分子克隆、蛋白表达、RNAi、免疫荧光定位、Western blot 以及免疫共沉淀等方法研究了 ANT 蛋白与 NHR-6 以及 p53/CEP-1 的相互作用和关系。另外通过 clustalX 和 Bioedit 软件分析了这几种线虫中的蛋白与人和小鼠的同源蛋白序列的相似性情况。

本文首先用 RNAi 的方法研究了这几种基因沉默后对三种线虫虫株 N2、*daf-2* (*e1370*) 和 *daf-16* (*e1038*) 寿命的影响, 结果发现 *tag-61* RNAi 后对寿命无显著影响; *r07e3.4* RNAi 后会使 N2、*daf-16* (*e1038*) 寿命缩短, 使 *daf-2* (*e1370*) 寿命延长; *nhr-6* RNAi 后使 N2 寿命缩短, *daf-16* (*e1038*) 寿命延长, 而 *daf-2* (*e1370*) 寿命不变; *p53/cep-1* RNAi 后只是延长 N2 的寿命, 而对 *daf-2* (*e1370*) 和 *daf-16* (*e1038*) 寿命无影响。

通过 RNAi 我们发现, *tag-61*、*r07e3.4*、*nhr-6* 会造成肠道内脂肪颗粒的增加, 这与它们参与能量代谢的功能相一致, 同时还发现 *tag-61* RNAi 后影响了线虫阴门的正常发育, 造成了产卵量的显著下降, 但是三者对 DAF-16::GFP 的表达和定位都没有显著改变。

免疫荧光定位发现这四种蛋白在线虫体内都有广泛分布, 但是在成虫生殖腺中表达更多一些, 另外 R07E3.4 在部分胚胎细胞中围绕细胞核呈花环状分布, R07E3.4 可能参与到了细胞凋亡的过程中。

为了进一步研究这四种基因对寿命的影响原因, 半定量 RT-PCR 以及 Western blot 的方法检测了 *tag-61*、*r07e3.4*、*nhr-6*、*p53/cep-1* 在 N2、*daf-2* (*e1370*)

和 *daf-16* (*e1038*) 虫株中的表达情况以及 DAF-2 和 DAF-16 在干扰虫体内的表达情况。结果发现 TAG-61 不参与线虫寿命的调节, 尽管 Western blot 未发现 TAG-61 与 DAF-2 有显著的相互作用, 但半定量 RT-PCR 检测到在 *daf-2*(*e1370*) 中 *tag-61* 的表达下降, 说明 DAF-2 是 TAG-61 表达必需的; R07E3.4 参与了线虫寿命的调节, 半定量 RT-PCR 检测结果表明 *daf-16* 和 *daf-2* 对 R07E3.4 的表达都是必需的; NHR-6 参与到寿命的调控, 并且 Western blot 结果显示与 DAF-16 蛋白相互抑制; CEP-1 的减少可以延长线虫寿命, 半定量 RT-PCR 检测到在 *daf-2* (*e1370*) 中 *cep-1* 的表达下降, 说明 *daf-2* 是 CEP-1 正常表达所必需的, *cep-1* 缺失造成的寿命延长依赖于 DAF-2, *daf-2* 不存在时则 *cep-1* 对寿命的延长作用消失。

在蛋白相互作用的研究上, 发现 TAG-61 是 R07E3.4 表达所必需的, R07E3.4 对 NHR-6 有抑制作用。CEP-1 对 TAG-61 有抑制作用, 而对 NHR-6 和 R07E3.4 则有促进作用, 同时, Co-IP 的结果表明在 DAF-16 缺失的情况下促进了 CEP-1 与 NHR-6 和 R07E3.4 的相互作用。

关键词: *Caenorhabditis elegans*; ANT 基因; *nhr-6*; *p53/cep-1*

Abstract

Adenine nucleotide translocase (ANT) is a mitochondrial bifunctional protein and it also called ADP / ATP carrier (AAC) which has the function of catalyzing ADP / ATP exchange between mitochondrial and cytoplasm and regulating the cell apoptosis. Therefore, *ant* genes play a vital role in energy metabolism, growth and development. *Caenorhabditis elegans* genome encodes four *ant* genes (*ant-1.1*, *ant-1.2*, *ant-1.3*, *ant-1.4*) and this paper focuses on the *tag-61* (*ant-1.1*) and *r07e3.4* which as a paralogous gene of *tag-61* (*ant-1.1*). In mammalian cells, ANT interact with p53 and Nurr77 involved in apoptosis, so we want to know whether the ANT in *C.elegans* also interact with the Nurr77 homologus NHR-6. Therefore, *nhr-6* and *p53/cep-1* were selected for investigation. The interactions and relationships between ANT proteins, NHR-6 and p53/CEP-1 were studied by molecular cloning, protein expression, RNAi, immunofluorescence, Western blot and immunoprecipitation. In addition, clustalX and Bioedit softwares were used to analyze the indentify of those proteins between *C.elegans* and human, mouse.

The effects of four genes on lifespan of N2, *daf-2* (*e1370*) and *daf-16* (*e1038*) were studied by RNAi. There was no significant effect on lifespan of three stains by *tag-61* RNAi; the lifespan of N2, *daf-16* (*e1038*) were shortened and the lifespan of *daf-2* (*e1370*) were lengthened after *r07e3.4* RNAi; the lifespan of N2 were shortened and the lifespan of *daf-16* (*e1038*) were lengthened after *nhr-6* RNAi, but the lifespan of *daf-2* (*e1370*) didn't change after *nhr-6* RNAi; and the lifespan of N2 were extended, while the lifespan of *daf-2* (*e1370*) and *daf-16* (*e1038*) did not change after *p53/cep-1* RNAi.

In addition, we found that the intestinal fat particles in the worms increased after *tag-61*, *r07e3.4*, *nhr-6* RNAi, which were consistent with their functions involved in energy metabolism. At the same time, we found that the development of vulva in the nematode was abnormal and resulted in significant decline in fecundity by *tag-61* RNAi, but the expression and localization of DAF-16:: GFP was not changed significantly by *tag-61*, *r07e3.4*, *nhr-6* RNAi.

Immunofluorescence localization of these four proteins revealed that they widely distributed in the body of nematode, and there were more localization in adult gonads. Especially, R07E3.4 presented a ring structure around the nucleus in the cytoplasm of blastomeres in the embryo, which indicated R07E3.4 might be involved in the apoptosis.

To further study the mechanism of lifespan change caused by the four genes RNAi, semi-quantitative RT-PCR and Western blot were used to detect the expression of TAG-61, R07E3.4, NHR-6, p53/CEP-1 in N2, *daf-2 (e1370)*, *daf-16 (e1038)* and the expression of DAF-2 and DAF-16 after those four genes RNAi. The results showed that TAG-61 was not involved in the lifespan regulation in nematode, but the results of semi-quantitative RT-PCR indicated that TAG-61 was regulated by *daf-2* in the mRNA level, although the Western blot showed the expression of TAG-61 did not change significantly in *daf-2* mutants; R07E3.4 was also involved in the lifespan regulation in nematode, its expression was also required the activity of the DAF-2, and TAG-61 is required for R07E3.4 expression; NHR-6 participated in the lifespan regulation and the Western blot showed that NHR-6 suppressed with DAF-16 mutually and *daf-2* is also required for NHR-6 expression, but R07E3.4 suppressed the NHR-6 expression; reduction of CEP-1 in nematode could extend the lifespan of N2. The results of Western blot showed that the expression of CEP-1 was did not change in *daf-2* and *daf-16* mutants compare to wild type worms, though the result of semi-quantitative RT-PCR indicated the transcripts of CEP-1 was decreased in *daf-2(e1370)*.

The results of protein interaction suggested that TAG-61 is required for the expression of R07E3.4; NHR-6 was suppressed by R07E3.4, and CEP-1 suppressed TAG-61, while CEP-1 promoted the expression of NHR-6 and R07E3.4. Co-IP results showed that the interaction of CEP-1 with NHR-6 and R07E3.4 could be promoted in the case of *daf-16* loss.

Key words: *Caenorhabditis elegans*; ANT genes; *nhr-6*; *p53/cep-1*

第一章 前言

秀丽小杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*, *C. elegans*) 属于线形动物门, 是一种很小的蠕虫, 全身透明, 以细菌为食, 性别为雌雄同体或雄性。由于在实验室易培养, 生活周期短 (图 1-1), 繁殖数量多等特点在上世纪六十年代就被科学家 *Sydney Brenner* 作为一种模式生物来研究胚胎发育及遗传学等问题, 如今这种小的土壤线虫已经成为研究各种生物及医学问题的非常重要的模式系统^[1-7]。随着 RNAi (RNA interference) 技术的发展, 利用 RNAi 来研究线虫中的基因功能已经成为一种有效便捷的方式^[8]。

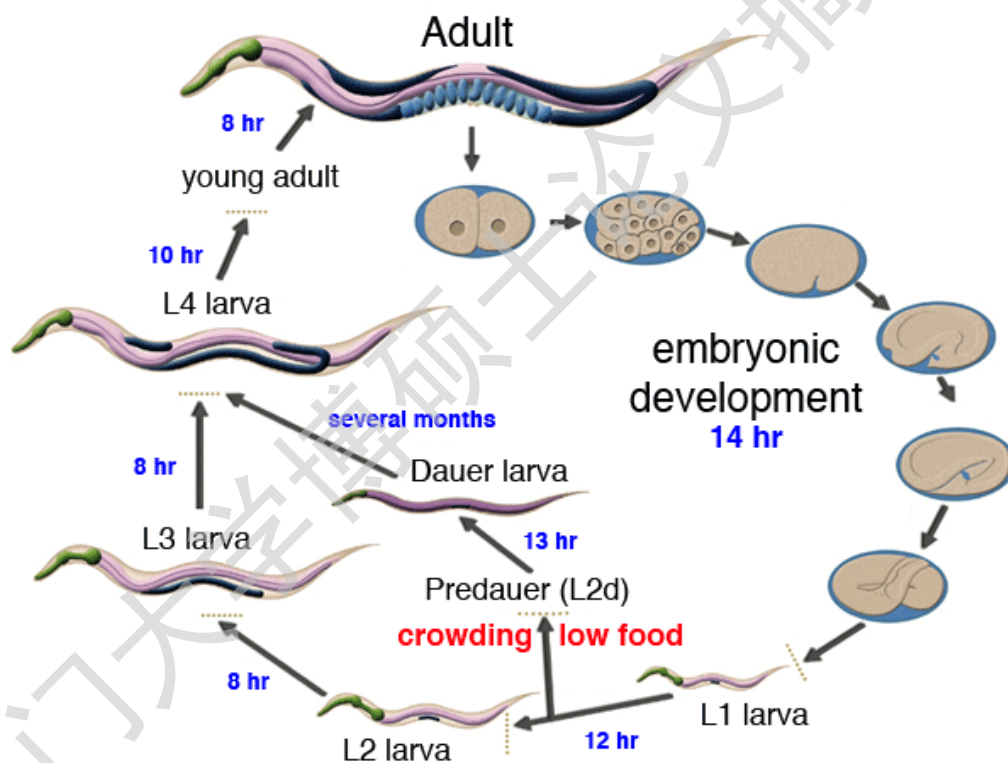


图 1-1 在 22 度下线虫的生活史

Fig.1-1 *C.elegans* life cycle at 22°C

(引自 Altun and Hall, © WormAtlas)

1 *C.elegans* 中与线粒体能量代谢有关的几个 *ant* 基因的概述

1.1 腺苷酸转移酶 (adenine nucleotide translocase; ANT) 家族介绍

线粒体是真核细胞内一种重要和独特的细胞器, 能够高效地将有机物转换为细胞生命活动的直接能源 ATP, 同时还作为调节细胞凋亡的开关^[9-11]。在线

虫中，线粒体的活性是生殖腺形态发育、寿命以及身体大小的一种重要调节因子^[12]。特定线粒体蛋白的缺陷会导致 L3 幼虫发育停滞，这说明了线粒体包含了调节动物发育必须的检空点^[12]。分布在线粒体内膜上的腺苷酸转移酶（adenine nucleotide translocase; ANT）是一种线粒体双功能蛋白，又称作 ADP/ATP 载体（ADP/ATP carrier; AAC），一方面催化 ADP 和 ATP 在细胞质与线粒体内膜之间进行转换（图 1-2）；另一方面参与调节细胞程序性凋亡^[13-15]，因此 *ant* 基因对线虫的能量代谢及生长发育都有着至关重要的作用。

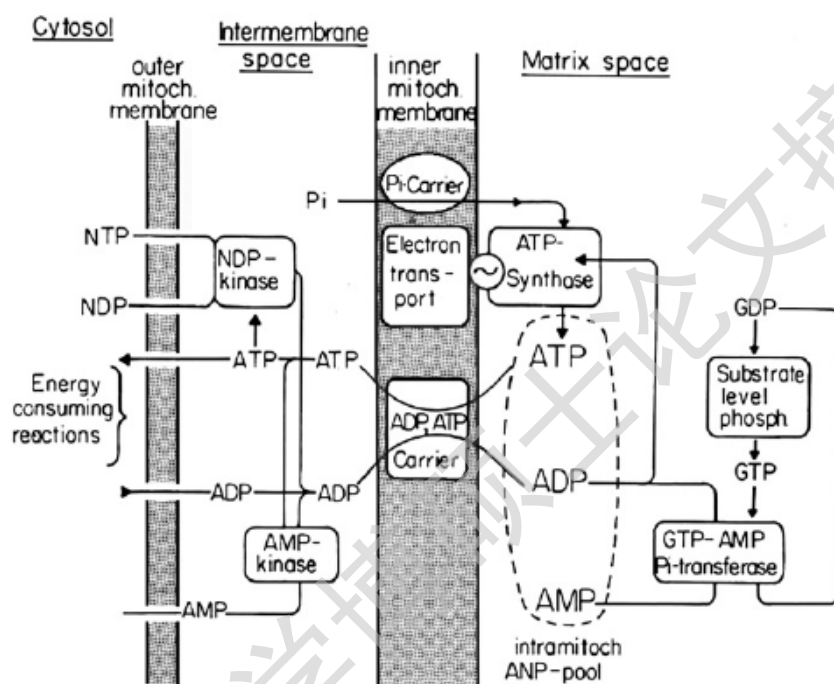


图 1-2 ADP/ATP 载体作为通道在线粒体和细胞质之间联通了磷酸盐转移的网络

Fig. 1-2. The ADP/ATP carrier as a gateway, inter-relating the phosphate transfer networks in the two mitochondrial and the cytosolic compartments.

（引自 M. Klingenberg 1976）

ANT 家族属于线粒体载体家族（mitochondrial carrier family; MCF），从较低等的真核生物到高等的脊椎动物中都有数种 ANT 异构体存在。以人的为例，人有四种 ANT 的异构体，分别是 ANT-1、ANT-2、ANT-3、ANT-4，每一种都有不同的组织特异表达方式。ANT-1 存在于骨骼和心脏肌肉中，ANT-4 在肝脏、睾丸和大脑中被发现，ANT-3 则是广泛存在的，而 ANT-2 主要在增殖细胞和癌细胞中被发现^[16]。但是在一些哺乳动物中并不是所有的这三种异构体都存在，如啮齿动物就缺乏 ANT-3^[17]。ANT 不同的异构体可以解释为是为了应对不同的刺激和需要（例如氧气）而进化来的。虽然在不同物种中 ANT 数量都有变化，

但是它们都有高度保守的一级结构和空间结构，其结构中都含有三个同源的重重复结构域以及特定的氨基酸标志 RRRMMM（图 1-3），因此一些特殊的功能被保留了下来^[18]。在功能上，ANT 蛋白表现出一种不同寻常的高度选择性，被认为是 ATP 最受用蛋白，与同为线粒体载体家族成员的核苷转运子（nucleotide transporters）也更为相似^[19]。ANT 蛋白在确保了 ATP 亚细胞水平的供应上起到了非常重要的作用，对于维持线粒体功能的多样性是必需的^[20]。

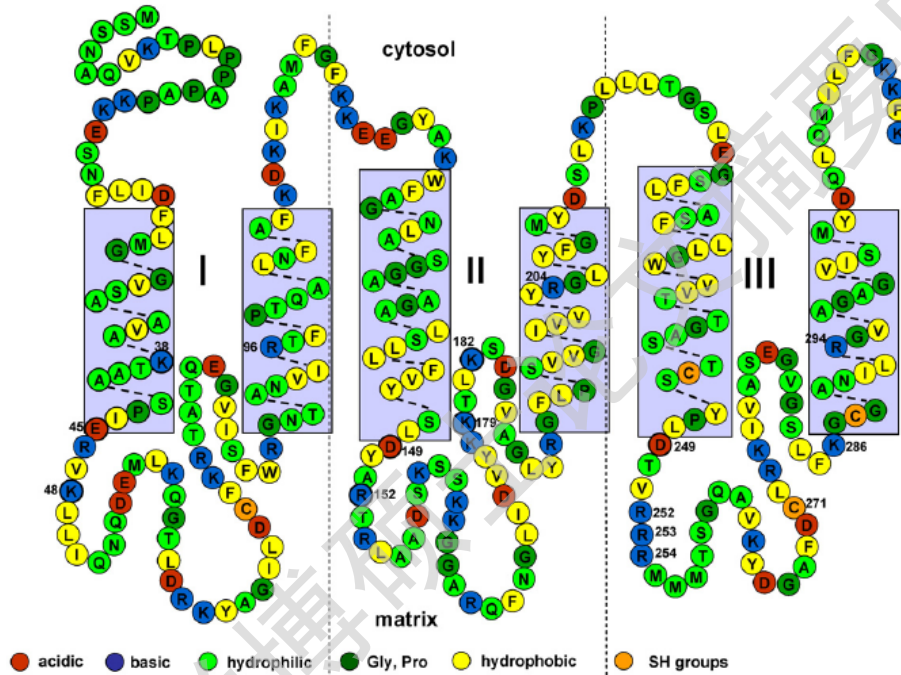


图 1-3 以酵母为例的 AAC 结构模型，包含了 6 个穿膜螺旋和 3 个重复结构域
Fig.1-3 The 6 transmembrane helix and 3 repeat domain model of AAC exemplified with yeast AAC (yAAC2).

（引自 M. Klingenberg 1994）

线虫 *C.elegans* 的基因组编码四个 *ant* 基因：*ant-1.1* (*tag-61*)，*ant-1.2* (*tag-194*)，*ant-1.3*，*ant-1.4* (*tag-316*)，其中 *ant-1.1* 和 *ant-1.2* 分别位于染色体 III 和 I 上，*ant-1.3* 和 *ant-1.4* 都位于染色体 IV 上。*C.elegans* 的 *ant-1.1*、*ant-1.2*、*ant-1.3* 基因在另外两种线虫 *C.briggsae* 和 *C.remanei* 中也有同源物，而 *ant-1.3* 和 *ant-1.4* 这两个新产生的基因副本可能是在物种进化中来自这三种线虫共同的祖先^[21]。线虫编码的这四个 ANT 蛋白与人的 ANT 蛋白有 75%到 80%的相似性，通过 GFP 报告基因发现 ANT-1.1 是一种广泛表达的线粒体蛋白，其余的三种都有细胞型表达的限制范围。ANT-1.2::GFP 融合蛋白被发现从胚胎的延伸期之后

便存在于肠道、咽和头部神经元，而且在整个发育过程中都不发生改变，但是 ANT-1.2::GFP 在缝隙细胞中的信号只在 L1-L2 期幼虫中被发现。ANT-1.3::GFP 的 GFP 信号发现存在于胚胎延长期的肠道和胚胎的前端部分，而且在幼虫的发育阶段都有发现，但是在成虫中只存在于一对头部神经元中，ANT-1.4::GFP 则与 ANT-1.3::GFP 的表达一致^[21]。对 ANT 异构体定位的研究初步表明了它们在线虫中的表达有不同的细胞类型和阶段，同时这些发现表明了不同的线虫组织在生长发育过程中对 ADP/ATP 的需求不同。四种异构体不同的表达范围是因为 ANT 蛋白决定了 ATP/ADP 在线粒体和细胞质之间的流动性，而不同异构体的表达方式正好可以调节这种流动性。而且不同的 ATP/ADP 转运能力对于线虫应对不同环境条件（如厌氧或者高氧情况）都是极为重要的^[21]。

近些年来一些研究数据表明，ANT 蛋白不只是在转运 ADP/ATP 上起作用，例如人的 ANT1 和 ANT3 过度表达后会引起细胞凋亡^[22]，ANT2 则抑制凋亡，而 ANT4 能够在不影响线粒体网络和呼吸链的情况下促进细胞的生长^[23]；而对 *C.elegans* 中的四种 ANT 异构体的功能研究发现，只有 ANT-1.1 在经 RNA 干扰之后会表现出虫体身长缩小和寿命延长效应，它对线虫的胚胎发育和胚后发育都是必需的^[21]。

1.2 *C.elegans* 中 *tag-61(ant-1.1)* 基因的情况

C.elegans 中 *ant-1.1* 也叫做 *tag-61*，其基因全长 1335bp，由四个外显子和三个内含子组成（图 1-4）。5'非翻译区为 69bp，起始密码子在 70~72bp 处，开放阅读框总长度为 900bp，共编码 300 个氨基酸。

ant-1.1 编码了 *C.elegans* 中四个线粒体腺苷酸转运酶之一，ANT-1.1 被预测参与了 ADP/ATP 在细胞质和线粒体中的交换。通过观察 ANT-1.1::GFP 融合蛋白的表达情况，发现 ANT-1.1 在体壁肌肉细胞、大部分神经系统、咽、肠道、生殖腺鞘细胞、顶端细胞以及真皮细胞（除了侧面的缝隙细胞）都有表达，说明 ANT-1.1 是一种广泛表达的蛋白^[21]。有研究表明，*ant-1.1* 表达的改变将会对线虫产生显著的影响，如胚胎致死、发育停滞、不育等^[21]，这些结果都说明了线粒体蛋白 ANT-1.1 对线虫发育很重要。从另一方面说，线粒体参与胚胎发育需要 *ant-1.1* 产生或者整合的关键信号^[21]。

ANT-1.1 还与核蛋白有紧密的联系，这种核蛋白的结构保证了线粒体基因

组复制的正常进行以及维持其完整性^[24]。在 *ant-1.1* (RNAi) 动物中, 线粒体网络是混乱的, 线粒体的管状框架碎裂成无数球状片断, 但仍沿着细胞的 AP (anteroposterior) 轴排列^[21]。ANT-1.1 对于维持线粒体的正常形态和功能都很重要。另外, ANT-1.1 在促进体细胞和生殖腺细胞的程序性凋亡方面也起到了关键的作用, 通过调节称作线粒体渗透转移孔的结构来参与细胞凋亡^[14], 在凋亡途径中 ANT-1.1 与 CED-4 和 CED-9 都有相互作用, 而后者的这种相互作用是可以被 EGL-1 的存在所打乱。生化分析表明 ANT-1.1 能够形成二聚体, 这说明 ANT-1.1 可能通过二聚体或者寡聚体的形式行使调节细胞凋亡的作用^[25]。



图 1-4 线虫 (*tag-61*) 基因结构

黑框代表外显子, 白框代表 UTRs, 折线代表内含子

Fig.1-4 Genomic structure of *C.elegans* (*tag-61*)

Black boxes represent exons encoding protein. White boxes represent UTRs. The lines between the exons represent introns.

(引自 Min Hu, 2007)

1.3 *tag-61* 的旁系同源物 *r07e3.4* 基因的概况

作为 *tag-61* (*ant-1.1*) 的旁系同源物, *r07e3.4* 也是编码线粒体 ADP/ATP 载体蛋白的基因。*R07E3.4* 被称作 *C.elegans* 假想蛋白, 目前对该蛋白的研究不多, 只有在少数几篇文章中提到了关于 *R07E3.4* RNAi 的效果^[26-28], 实验中并未发现胚胎及幼虫致死, 生长缓慢, 后代不育等表型。

R07E3.4 基因全长 1278bp, 由六个外显子和五个内含子组成, 开放阅读框为 897bp, 编码 298 个氨基酸, 其基因结构如图 (图 1-5)。该基因的功能、定位等都有待进一步的研究和证实。



图 1-5 *R07E3.4* 基因结构图

蓝色框代表外显子, 灰色框代表 UTRs, 折线代表内含子

Fig.1-5 Genomic structure of *R07E3.4*

Blue boxes represent exons encoding protein. Gray boxes represent UTRs. The lines between the exons represent introns.

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库